



TITLE:

ホヤ初期胚における遺伝子発現の 時間的な調節の解析(Abstract_要 旨)

AUTHOR(S):

池田, 達郎

CITATION:

池田, 達郎. ホヤ初期胚における遺伝子発現の時間的な調節の解析. 京都大学, 2017, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20206>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏 名	池 田 達 郎
論文題目	ホヤ初期胚における遺伝子発現の時間的な調節の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>動物の発生において遺伝子を発現する時間と場所は、ゲノム上に記載されている遺伝子調節ネットワークにより調節されている。遺伝子発現の空間的な調節の理解が進んできた一方で、遺伝子をいつ発現するかという時間的な調節はあまり理解が進んでいない。本研究では尾索動物カタユレイボヤを用いて、胚発生における遺伝子発現の時間的な調節について、2つのアプローチで研究した。</p> <p>第一部の研究では、2つの転写因子<i>Foxa.a</i>および<i>Zic-r.b</i>に注目して、時間的な調節機構を研究した。この2つの転写因子はホヤ胚において、脊索と脳という異なる組織の運命決定に共通して必要である。脊索の系譜では、<i>Foxa.a</i>と<i>Zic-r.b</i>は同じ細胞で同時に発現し、<i>Brachyury</i>遺伝子の発現を活性化して脊索の運命を決定する。一方脳の系譜では、<i>Foxa.a</i>と<i>Zic-r.b</i>の発現は時間的に重複せず、まず<i>Foxa.a</i>が発現し、その発現の終了後に<i>Zic-r.b</i>が発現する。<i>Zic-r.b</i>の発現は初期原腸胚期に予定脳/付着突起細胞が分裂して、予定脳細胞と予定付着突起細胞に分離した直後から、予定脳細胞のみで発現する。この発現はFgfシグナリング依存的であるが、そのFgfシグナリングは分裂前の予定脳/付着突起細胞で32細胞期から活性化している。なぜ<i>Zic-r.b</i>は初期原腸胚期まで発現を開始しないのだろうか。</p> <p>この疑問を起点に申請者は、脳の系譜における<i>Foxa.a</i>と<i>Zic-r.b</i>の発現が、3つの転写抑制因子<i>Prdm1-r.a</i>、<i>Prdm1-r.b</i>および<i>Hes.a</i>により時間的に調節されていることを明らかにした。この3つの転写抑制因子は<i>Zic-r.b</i>が分裂前の予定脳/付着突起細胞で発現することを抑制していた。この発現開始の遅延が、<i>Zic-r.b</i>の発現を予定脳細胞に局限し、予定付着突起細胞で<i>Zic-r.b</i>が発現しないようにするために必要であった。加えて、<i>Prdm1-r.a</i>は<i>Foxa.a</i>の発現を抑制し、32細胞期で速やかに発現を終了させていた。このようなメカニズムのために、<i>Prdm1-r.a</i>、<i>Prdm1-r.b</i>および<i>Hes.a</i>の同時機能阻害胚では予定脳細胞で<i>Foxa.a</i>と<i>Zic-r.b</i>の発現が時間的に重複し、その結果異所的に<i>Brachyury</i>遺伝子が発現して脊索のプログラムが活性化されてしまうことがわかった。このように、<i>Prdm1-r.a</i>、<i>Prdm1-r.b</i>および<i>Hes.a</i>による<i>Foxa.a</i>および<i>Zic-r.b</i>の時間的な調節は、予定脳細胞で脊索のプログラムが異所的に活性化しないようにするため、また付着突起細胞が分化するために必要である。</p> <p>第二部では、申請者は包括的なアプローチによって、胚発生における転写の時間的調節の問題に取り組んだ。ホヤの胚性の遺伝子の転写は8細胞期ごろから開始することが示唆されていたので、その時期を含むホヤ初期胚における胚性の転写の時間的な動態をRNAポリメラーゼII (Pol II) に対するクロマチン免疫沈降-ディープシーケンシング法により調べた。その結果、4細胞期以前には遺伝子は転写されず、8細胞期および16細胞期から239の遺伝子が転写開始されることを示した。またこれらの最初期に転写される遺伝子の71%は、転写開始前の発生段階から転写開始領域にPol IIが結合していた。このような動態の観察結果は脊索動物では初であり、類似の研究がおこなわれているハエの場合とは大きく異なっていた。本研究の成果は、胚性の転写の開始期において、異なる動物間で、転写のグローバルな時間的調節の機構に違いがあることを示唆している。</p>			
(論文審査の結果の要旨)			
<p>動物の発生では、様々な遺伝子が時間的・空間的に特異的な発現を示し、体づくりに大きな役割を果たす。そのような遺伝子発現の調節においては、転写レベルでの調節の研究が盛んに進められてきた。そうし</p>			

(続紙 2)

た研究により空間的な遺伝子発現調節については特によく理解が進んでいる。例えば、ホヤ胚の空間的な遺伝子発現パターン形成は、遺伝子調節ネットワークとしてほぼ完全にその因果関係が記載され理解されている。一方で、遺伝子調節ネットワークがどのように時間発展していくのか、あるいはその時間発展を調節する特別な機構が存在するのか、という点については必ずしも十分な理解がなされていない。

申請者は、この遺伝子調節ネットワークの時間発展に関する調節機構に焦点をあてて、解析をおこなった。まず、第一部では、初期胚に発現する*Prdm1-r.a*および*Prdm1-r.b*と呼ばれる転写因子をコードする二つの相同遺伝子が64細胞期胚の外胚葉細胞で、脳の発生プログラムを動かす*Zic-r.b*転写因子遺伝子の発現を抑制していることを明らかにした。脳の系譜の細胞は、64細胞期の段階では、脳と付着突起の発生運命を持っている。申請者の結果は、この抑制機構による*Zic-r.b*の時間的調節が、脳と付着突起の発生運命の決定に重要であることを示している。また、付着突起は感覚器をもつ細胞であり、神経板の前方境界から生じるため、予定付着突起細胞は、脊椎動物の前方ブラコードと同じ進化的起源をもつ細胞群であると考えられている。申請者の成果は、この時間的調節機構が、ブラコード様の構造の進化につながった可能性を示すものであり、高く評価できる。

次に、申請者は、*Prdm1-r.a*および*Prdm1-r.b*に加え、*Hes.a*も*Zic-r.b*の発現を抑制していることを明らかにした。これら三つの抑制因子の機能阻害胚では、さらに*Foxa.a*転写因子遺伝子の発現の終了のタイミングが遅れることを見だし、結果的に*Zic-r.b*と*Foxa.a*の発現が時間的に重複してしまうことで、脊索のプログラムが脳の系譜で異所的に動かされてしまうことを明らかにした。転写抑制因子による時間的調節の重要性を示した研究成果として評価できる。また、申請者が議論している通り、*Prdm1-r.a*、*Prdm1-r.b*、*Hes.a*の機能阻害胚の表現型は、頭索動物の体制に似ており、この抑制機構がホヤと脊椎動物の共通祖先において獲得されたという仮説は、脊椎動物の起源と進化における具体的な遺伝子調節変化のモデルとして、評価できる。

第二部では、胚性のゲノムからの転写が開始するまでのRNAポリメラーゼIIの動態を、クロマチン免疫沈降法によって包括的に調べた研究が述べられている。胚性ゲノムからの転写が始まるタイミングがどのように調節されているかという問題は、発生生物学の分野では長い間議論され続けている問題である。受精卵に始まって胚性ゲノムが活性化されるまでのRNAポリメラーゼIIの動態を明らかにした申請者の研究成果は、初期胚サンプルを得ることが容易であるというホヤ胚の特長を生かしたものであり、この分野に貴重なデータを提供している。受精卵の段階からRNAポリメラーゼIIがプロモーター付近に結合しているという発見は、昆虫での類似の研究成果とは異なるものであり、脊椎動物を含む脊索動物では、昆虫とは異なる機構で胚性ゲノムからの転写が始まるタイミングが制御されている側面がある可能性を示したものである。

このようにして、申請者は、具体的な分子機構の解析を通じて、動物胚における遺伝子発現の時間的調節の重要性と、時間的調節の進化における役割と変化を明らかにしてきた。独自の視点をもって、新奇性の高い研究成果を生み出してきたことは高く評価できる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成29年1月17日に論文内容とそれに関連した口頭試問をおこなった結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降